第12卷 第3期
1991年8月
动物学研究
ZOOLOGICAL RESEARCH
Vol. 12, No. 3
Aug., 1991

不同脊椎动物消化道内5-羟色胺免疫染色细胞的分布*

唐秀雯　　郑一守
（南京大学）　（南京大学医学院）

摘　　要

用过氧化物酶—抗过氧化物酶（PAP）法，对乌鳢(*Ophicecephalus argus*)、中华大蟾蜍（*Bufo bufo garaaarizans*）、黄喉水龟（*Clemmys mutica*）、虎皮鹦鹉（*Melopsittacus undulatus*）和小白鼠（*Mus musculus albula*）五种脊椎动物消化道内的5-羟色胺（5-hydroxytryptamine，简称5-HT）免疫染色细胞的分布进行了研究。发现各种动物胃肠道（虎皮鹦鹉胃、乌鳢肠及胃贲门除外）均含有5-HT免疫染色细胞，并首次发现黄喉水龟和中华大蟾蜍食道内含有5-HT免疫染色细胞。一般地，各种动物胃内5-HT免疫染色细胞密度最高，十二指肠和大肠次之，小肠最低。5-HT免疫染色细胞位于粘膜上皮或腺上皮细胞间，常有一个或一个以上的细胞突起伸入固有层或肠腔面（或腺腔面），有些细胞的一端突起伸入固有层，另一端突起伸入肠腔面，表明5-HT免疫染色细胞兼具内分泌或外分泌功能。

关键词：乌鳢，中华大蟾蜍，黄喉水龟，虎皮鹦鹉，小白鼠，5-**HT**免疫染色细胞

哺乳动物胃肠道内含有大量的5-羟色胺（5-hydroxytryptamine，5-HT），主要是由肠粘膜上皮的肠嗜铬细胞（enterochromaffin cell，EC）合成并释放入血。5-HT具有十分重要的生理功能，如与胃肠道的蠕动、饭后的血管舒张以及分泌作用都有着密切的关系（Bülbring等，1958；Biber等，1974；Cassuto等，1979）。用嗜银染色法、甲醛诱发的组织荧光法和电镜研究EC细胞的形态学特征和分布，发现EC细胞广泛分布在人和其他哺乳动物的胃肠道内（Portela-Gomes 1982；Solcia等，1976）。随着抗5-HT特异性抗体的制成和检测5-HT的免疫细胞化学方法的建立（Facer等，1979），迄今，已有人、犬、兔、豚鼠和大鼠等哺乳动物胃肠道内5-HT免疫染色细胞的定位研究报道（Inokuchi等，1983；Nilsson等，1985；Tange等，1982；黄威权等，1987），但非哺乳类动物的各种脊椎动物胃肠道内含5-HT的细胞的分布研究仍未见报道。本文报道用过氧化物酶—抗过氧化物酶（Peroxidase-antiperoxidase，简称PAP）法，分别对鱼类、两栖类、爬行类、鸟类和哺乳类等不同脊椎动物消化道内5-HT免疫染色细胞的分布和形

* 国家教委基金重点科学技术研究项目。
本工作得到第四军医大学组织胚胎教研室黄莳乔老师的帮助，谨致谢意。
本文1990年3月12日收到，同年8月6日修回。

态特征作比较研究，为进一步研究在不同动物消化道内5-HT的功能提供形态学基础。

材料和方法

一、动物和试剂 以性成熟雄性乌鳢(*Ophiocephalus argus*)、中华大蟾蜍(*Bufo bufo gargarizans*)、黄喉水龟(*Clemmys mutica*)、虎皮鹦鹉(*Melopsittacus undulatus*)和小白鼠(*Mus musculus albula*)(以下分别简称乌鳢、蟾蜍、水龟、鹦鹉和小鼠)消化道为实验材料，每种动物各取5只。

兔抗5-HT抗血清为第四军医大学产品。羊抗兔IgG抗血清为上海华美公司产品。PAP是第二军医大学产品。

二、取材、固定和切片 动物经麻醉后先用0.01 mol/L pH 7.4的磷酸盐缓冲生理盐水(PBS)作动脉灌注除去血液，取出消化道，将其分成食道、胃贲门、胃体、胃幽门、十二指肠、小肠和大肠等各段，Bouin氏液固定，52—54℃石蜡包埋，切成6 μm切片。其中十二指肠、小肠和大肠各段采用肠卷石蜡切片法(黄荫乔等，1985)。

三、免疫细胞化学染色 切片经二甲苯和各级酒精下行至水，用0.3%H_2O_2/PBS室温处理30分钟，除去内源性过氧化物酶，PBS洗涤。滴加正常羊血清(1:10) 37℃温育30分钟，封闭非特异性反应部位，倾去血清。兔抗5-HT抗血清(1:5000) 37℃温育60分钟，室温过夜，PBS洗涤四次，每次5分钟。羊抗兔IgG抗血清(1:10) 37℃温育30分钟，PBS洗涤三次，每次5分钟。PAP(1:100) 37℃温育30分钟，PBS洗涤三次，每次5分钟。最后在酶底物——二氨基联苯胺/过氧化氢(DAB/H_2O_2)溶液内避光反应10—15分钟，蒸馏水洗涤终止反应，各级酒精脱水，二甲苯透明，中性树胶封固。

经PAP法染色的部分切片用苏木精液复染。

四、对照实验 切片用正常兔血清代替兔抗5-HT抗血清温育，其余染色步骤同实验组。

表1 不同脊椎动物消化道内5-HT免疫染色细胞的密度

Tab. 1. The density of 5-HT immunostaining cells in digestive tracts of different kind vertebrates

消化道 \ X±SE \ 动物	小白鼠 *Mus musculus albula*	虎皮鹦鹉 *Melopsittacus undulatus*	黄喉水龟 *Clemmys mutica*	中华大蟾蜍 *Bufo bufo gargarizans*	乌鳢 *Ophiocephalus argus*
食道	0	0	8.43±0.80	83.53±6.0	0
贲门	30.62±2.30	0	53.36±6.82	166.6±8.17	0
胃体	55.89±0.41	0	47.86±8.28	175.1±7.86	90.19±6.37
幽门	80.47±2.93	0	55.22±3.25	209.9±9.06	74.00±3.13
十二指肠	22.99±0.71	2.709±0.138	20.12±2.18	62.86±2.13	0
小肠	17.00±1.49	2.713±0.143	20.01±2.05	38.82±3.37	0
大肠	24.52±1.14	2.614±0.152	92.61±2.92	44.27±2.03	0

结　　果

PAP法显示5-HT免疫染色细胞的胞质呈均质状或细颗粒状棕色，细胞核不着色。对照片呈阴性反应。

一、不同脊椎动物消化道各段内5-HT免疫染色细胞的密度　5-HT免疫染色细胞的密度以6 μm厚、5 mm长的消化道各段阳性细胞数表示（表1）。小鼠胃幽门部阳性细胞密度最高，胃体和胃贲门的次之、大肠的较低，十二指肠和小肠的最低。鹦鹉仅在十二指肠、小肠和大肠有密度很低的阳性细胞。水龟大肠的阳性细胞密度最高，胃幽门、胃贲门和胃体的次之，十二指肠和小肠的较低，食道的更低。蟾蜍胃幽门、胃体和胃贲门的阳性细胞密度最高，食道及十二指肠的次之，大肠和小肠的最低。乌鳢仅在胃幽门和胃体内发现较高密度的阳性细胞。

从不同脊椎动物消化道的相同各段的阳性细胞密度来看，蟾蜍除大肠外，其他各段都是在各类动物中最高的，大肠的阳性细胞密度仅低于水龟。蟾蜍和水龟食道内有5-HT免疫染色细胞，蟾蜍食道段的阳性细胞密度较高，但水龟这类细胞很少（图版Ⅰ：1、2）。在胃幽门、胃体和胃贲门部，蟾蜍有密度很高的阳性细胞，其次是小鼠和水龟，乌鳢仅在胃体和胃幽门有密度较高的阳性细胞。蟾蜍的十二指肠和小肠的阳性细胞密度中等，小鼠和水龟较蟾蜍的低，鹦鹉仅有很少的阳性细胞。大肠内的阳性细胞密度以水龟最高（图版Ⅰ：3），蟾蜍的次之，小鼠的更低，鹦鹉大肠内阳性细胞很少。

二、5-HT免疫染色细胞在消化道各段内的组织学分布　在不同脊椎动物消化道相同各段内，5-HT免疫染色细胞的组织学分布不完全相同。蟾蜍和水龟食道内的阳性细胞大多位于食道腺上皮细胞间。蟾蜍和小鼠胃内阳性细胞多位于腺上皮细胞间（图版Ⅰ：4、5），胃小凹处的粘膜上皮细胞间有较多的这类细胞，其它各类动物胃内阳性细胞亦多位于腺上皮细胞间。小鼠和鹦鹉十二指肠和小肠阳性细胞主要位于腺上皮细胞间（图版Ⅰ：6）。蟾蜍十二指肠和小肠阳性细胞多分布在粘膜上皮细胞间（图版Ⅰ：7）。水龟十二指肠和小肠的阳性细胞位于粘膜上皮细胞间或腺上皮细胞间（图版Ⅰ：8）。各类动物大肠的阳性细胞主要位于腺上皮细胞间，在粘膜上皮细胞间较少见。

5-HT免疫染色细胞呈梭形、锥形、卵圆形及不规则形。常有一个或一个以上呈阳性染色的突起。有的突起穿过上皮细胞间到达腺腔或肠腔面（图版Ⅰ：6、8、11），突起末端有时膨大。有的突起穿过粘膜层的基膜到达固有层（图版Ⅰ：9、10），突起末端附近看到染色反应产物（图版Ⅰ：10）。此外，看到一端突起伸向固有层，另一端突起伸入肠腔面的阳性细胞（图版Ⅰ：11），有的阳性细胞突起与另一个细胞突起相连（图版Ⅰ：12）。在水龟消化道内，有较多的具有3个突起的阳性细胞(图版Ⅰ：13)。

讨　　论

一、表1示在鱼类消化道内，已出现5-HT免疫染色细胞，当进化到两栖类时，这类细胞密度明显增加并达高峰。在爬行类和哺乳类，染色细胞密度较两栖类的低，鸟类

的这类胞细密度最低。上述结果提示，消化道内5-HT免疫染色胞细密度并不与动物进化呈平行关系，而可能与生活环境有关。

二、各类脊椎动物都是以胃部（鹦鹉除外）的5-HT免疫染色细胞密度最高，其中尤以胃幽门部更为突出，十二指肠和小肠的阳性细胞密度下降到较低水平，与胃部相比，有显著性差异（$P < 0.05$），大肠处阳性细胞密度略有上升（乌鳢除外），这与其他作者的结果不同（黄威权等，1987）。这种较有规律性的变化可能因为胃是消化道行使消化功能的主要部位，需要大量的5-HT释放以有助于胃的蠕动和食物消化的缘故。

迄今报道，哺乳动物中EC细胞仅在胃肠道内。我们发现蟾蜍和水龟食道内亦有含5-HT的胞细，表明含5-HT的细胞在各类动物消化道内的分布位置是不同的。

三、消化道内的5-HT除来自胃肠道内在神经外，主要由EC细胞合成和分泌。用电镜观察到EC细胞受刺激后，细胞中的胞吐小泡增加，EC细胞与其他细胞间隙有内分泌颗粒物质，认为这些物质可藉弥散方式透过基膜释放入固有层的毛细血管(Solcia等，1976)。Facer等（1979）最早用免疫荧光技术在EC细胞内定位出5-HT。Inokuchi等，（1983）报道，PAP法显示5-HT远较亲银反应和嗜银反应等组织化学方法灵敏和特异，并指出，人十二指肠和结肠内的所有亲银性细胞（argentaffin cells），其嗜银性（argyrophil）和PAP法都呈阳性，但少部分PAP法阳性细胞，其亲银性和嗜银性都呈阴性，作者认为，PAP法能显示出不同类型的EC细胞。最近，黄威权等（1987）报道，大鼠胃肠道内的5-HT免疫活性细胞可通过细胞突起伸入到固有层或肠腔面（或腺腔面），行使内或外分泌功能。我们发现，不仅在哺乳动物，而且在其他四种脊椎动物消化道内，5-HT免疫染色细胞亦可以细胞突起伸入到固有层或肠腔面（或腺腔面），释放5-HT，行使内或外分泌功能。我们还看到有些细胞的一个突起伸入到固有层、另一个突起伸入到肠腔面，是否反映这类细胞可能同时具有内分泌和外分泌功能，还有待进一步研究。此外，发现有些细胞以其突起与其他5-HT免疫染色细胞或其他突起相连，表明细胞间可通过细胞突起传递5-HT。

图 版 说 明

1. 中华大蟾蜍食道内5-HT免疫染色细胞 ×140
2. 黄喉水龟食道内5-HT免疫染色细胞 ×35
3. 黄喉水龟大肠内5-HT免疫染色细胞 ×67
4. 中华大蟾蜍胃幽门腺区5-HT免疫染色细胞(苏木精液复染) ×67
5. 小鼠胃腺泡区5-HT免疫染色细胞(苏木精液复染) ×67
6. 小鼠十二指肠粘膜层5-HT免疫染色细胞（苏木精液复染）。箭头示腺泡上皮细胞间的两个阳性细胞，有突起伸入腺腔面。 ×280
7. 中华大蟾蜍十二指肠粘膜区的5-HT免疫染色细胞 ×35
8. 黄喉水龟十二指肠粘膜区的5-HT免疫染色细胞（苏木精液复染）。箭头示突起伸入到腺腔面。 ×140
9. 小鼠胃粘膜上皮细胞间的5-HT免疫染色细胞。箭头示阳性突起伸入固有层。 ×67
10. 中华大蟾蜍胃粘膜的5-HT免疫染色细胞。箭头示阳性细胞突起伸入固有层和末端附近的阳性反应产物。 ×280
11. 中华大蟾蜍小肠粘膜层5-HT免疫染色细胞（苏木精液复染）。箭头示阳性细胞两个突起分别伸入肠腔面和固有层。 ×280
12. 中华大蟾蜍小肠粘膜上皮细胞间的5-HT免疫染色细胞(苏木精液复染)。箭头示两个阳性突起相连。×560
13. 黄喉水龟食道内的5-HT免疫染色细胞。箭头示阳性细胞的三个突起。 ×670

参 考 文 献

黄威权等 1987 大鼠胃肠道 5-HT免疫活性内分泌细胞的分布及形态学观察。解剖学报，18:422。

黄韵乔等 1985 大鼠全胃肠卷石蜡切片及其在改良的银染法中的应用。第四军医大学学报，6:156。

Biber, B. *et al*. 1974 A pharmacological study of intestinal vasodilation mechanism in the cat. *Acta Physiol. Scand.*, 90:673.

Bülbring, E. and Lin, RCY., 1958 The effect of intraluminal application of 5-hydroxytryptamine and 5-hydroxytryptophan on peristalsis; the local production of 5-HT and its release in relation to intraluminal pressure and propulsive activity. *J. Physiol.(Lond)*, 140:381.

Cassuto, I. *et al*. 1979 The effect of lidocaine on the secretion induced by cholera toxin in the cat small intestine. *Experientia*, 35:1467.

Facer, P. *et al*. 1979 Immunocytochemical demonstration of 5-hydroxytryptamine in gastrointestinal endocrine cells. *Histochem. J.*, 11:117.

Inokuchi, H., *et al*. 1983 Identification of EC cells in the human intestine. *Histochemistry*, 79:9.

Nilsson, O. *et al*. 1985 Subcellular localization of serotonin immunoreactivity in rat enterochromaffin cells. *Histochemistry*, 82:351.

Portela-Gomes, G. M. 1982 Enterochromaffin cells; a qualitative and quantitative study. *Acta Univ. Ups (suppl.)*, 434:1982.

Solcia, E. *et al*. 1976 Histochemical and ultrastructural studies on the argentaffin and argyrophil cells of the gut. In Coupland, R. E. and Fujita, T. (eds); Chromaffin, enterochromaffin and related cells. Elsevier Scientific. Publishing Company, Amsterdam, Oxford, New York, pp209.

Tange, A. *et al*. 1982 Immunohistochemical studies on serotonin containing cells in the gastric and duodenal mucosa of the dog. *Okajimas Folia Anat.Japan* 58(Nos. 4—6):945.

DISTRIBUTION OF 5-HYDROXYTRYPTAMINE IMMUNOSTAINING CELLS IN DIGESTIVE TRACTS OF DIFFERENT KIND VERTEBRATES

Tang Xiaowen

(*Biology Department, Nanjing University*)

Zhen Yishou

(*Medical College, Nanjing University*)

The distribution of 5-hydroxytryptamine (5-HT) immunostaining cells in digestive tracts of vertebrates containing *Ophiocephalus argus*, *Bufo bufo gargarizans*, *Clemmys mutica*, *Melopsittacus undulatus* and *Mus musculus*

albula were studied by peroxidase-antiperoxidase (PAP) method. The immunostaining cells were localized in the gastrointestinal tracts of above animal (except the gaster of *Melopsittacus undulatus*, the intestine and the cardia of gaster of *Ophiocephalus argus*). It first were localized in the esophagus of *Clemmys mutica* and *B. b gargarizans*. Generally, the density of 5-HT immunostaining cells in the gastrointestinal tracts were the highest in the gasters and moderate in the duodenum and the large intestine, and the lowest in small intestine.

The 5-HT immunostaining cells were visualized to distribute between the epithelum cells of the mucosa or gland. The positive cells usually had one or more processes which contained 5-HT immunostaining substance. Some processes were reached into lumen surface of the gland or intestine. Some were extended between other epithelum cells or even reached into lamina propria through the basal membrane. These results indicate that the 5-HT immunostaining cells in digestive tracts could release 5-HT by both endocrine and exocrine ways.

Key words: *Ophiocephalus argus, Bufo bufo gargarizans, Melopsittacus undulatus, Clemmys mutica, Mus nusculus albula*, 5-HT immunostaining cell

(上接292页)

腹段（平泄殖腔的）皮肤中的Al含量（324μg/g）最高；其次是脑、脊髓、颈段皮肤（约200μg/g）；胆汁、肋骨和气管的Al含量也较高；其它器官含量较低，一般在100μg/g以下。从谱图还可看出，消化管、泌尿生殖器官内的Al含量最低。据文献记载，哺乳动物和人体内Al含量很少，但蛇岛蝮蛇体内的Al含量较高，尤其是皮肤，这可能与皮肤具有较强的富集作用，以及与Al的排泄有关。

经ICP-AES测定证明，蛇岛蝮蛇体内含有Zn、Cu、Fe、Mn、Mo、Cr、Sn、Al等多种微量元素。在蛇体内不仅分布极广，而且每一种微量元素的分布均与各器官的生理机能有着密切关系。实验中还发现，蝮蛇体内的微量元素含量，不仅与食物种类有关，还与食量的多少、取样时间、代谢机能以及健康状况等有密切关系。

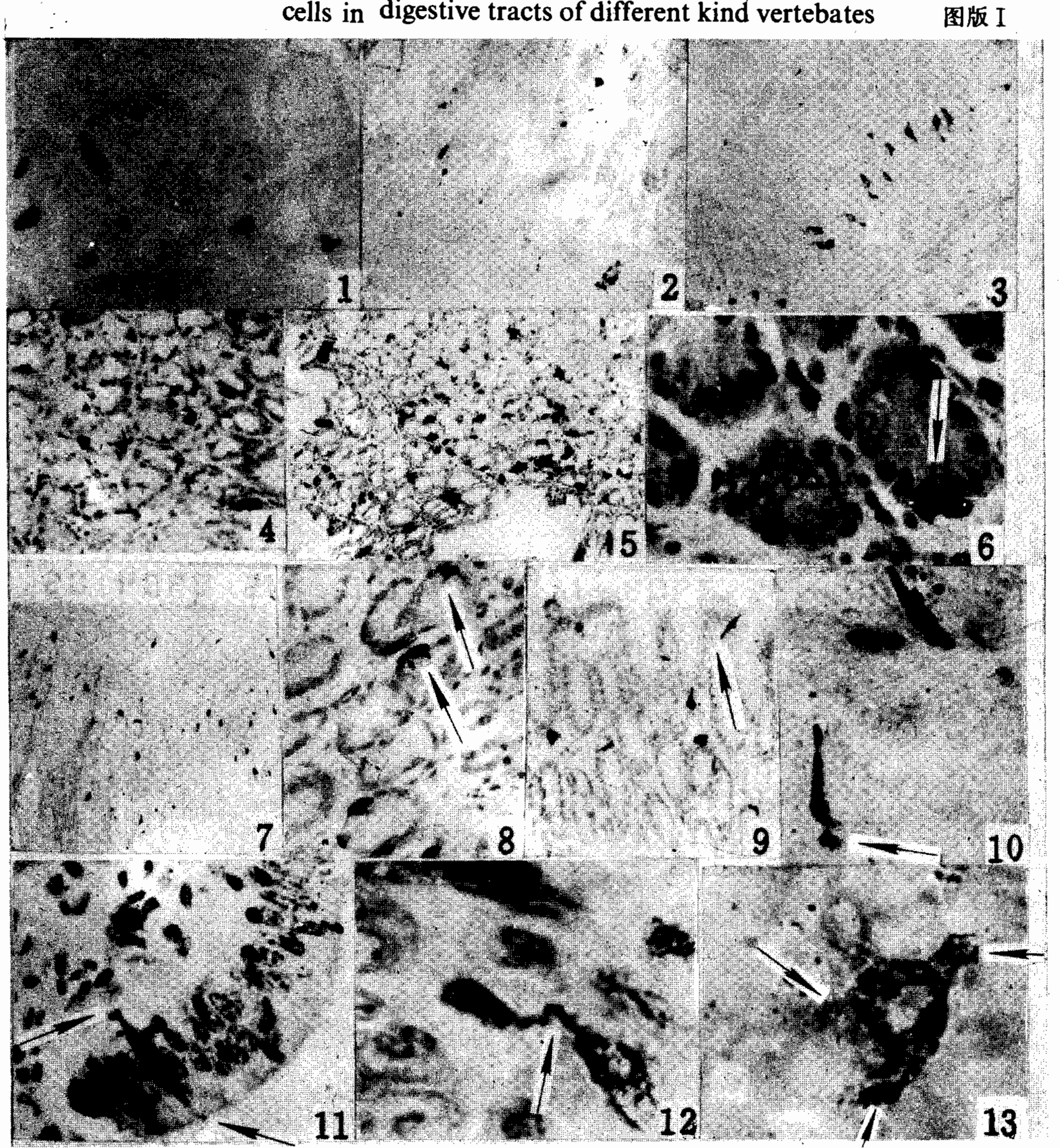
徐克明 赵永魁 刘玉国 陆雅琴
Xu Keming Zhao Yongkui Liu Yuguo Lu Yaqin
（辽宁师范大学 大连）
(*Department of Biology, Liaoning Normal University, Dalian*)

李建立 栾永贵 唐正仁
Li Jianli Luan Yonggui Tang Zhengren
（大连蛇类研究所）
(*Institute of Snake, Dalian*)

唐晓雯等：不同脊椎动物消化道内 5—羟色胺免疫染色细胞的分布

Tang Xiaowen *et al.*: Distribution of 5—hydroxytryptamine immunostaining cells in digestive tracts of different kind vertebates

图版 I



(图版说明见正文)